

(Aus der „Clinica Alemana“, Córdoba [Argentinien].)

Über die Widerstandsfähigkeit des Gewebes gegenüber verschiedenen Schädigungen.

Eine Antwort zur Arbeit von H. Vollmar, dieses Archiv Bd. 307, S. 490 u. f.

Von

Prof. Dr. P. Busse-Grawitz.

Mit 9 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 15. Juli 1941.)

H. Vollmar¹ hat in weitgehender, von ihr selbst bedauerter Unkenntnis meiner Arbeiten, Methoden und Fragestellungen Kulturversuche mit geschädigten Geweben durchgeführt, die negative Ergebnisse zeigten. Indem ich in dieser Arbeit die Gründe für solche Mißerfolge aufzeige*, will ich gleichzeitig an neuen Versuchen dartun, wie man Lebensäußerungen in geschädigten Geweben erhalten kann und um welche Gewebefunktionen es sich dabei handelt.

Alle meine Untersuchungen haben das Phänomen des *Gewebeabbaus* zum Gegenstand, d. h. die Erscheinung, daß sich Bindegewebe (und andere Gewebe) unter bestimmten Bedingungen total in leukocytaire Rundzellen umwandeln (irrtümlich als Leukocyteineinwanderung gedeutet).

Dieser von Paul Grawitz entdeckte², den meisten Untersuchern aber unbekannte Vorgang stellt eine Gewebefunktion dar, und zwar die *primitivste* Gewebefunktion, welche der Proliferation vorangeht und ihr daher übergeordnet ist, denn *ehe* in heilendem oder entzündetem Gewebe Mitosen auftreten, findet die Umbildung in Rundzellen statt.

* Wenn Vollmar berichtet, daß in der Carrel-Kultur geschädigte Gewebe kein Auswachsen zeigen, so stimmen diese Beobachtungen mit den meinen überein; ich selbst habe das mehrfach angeführt. Auch im Citratplasma findet bei geschädigten Geweben ein Auswachsen von Spießen nicht statt, wohl aber eine Umwandlung der Hornhautkörper (und selten der Grundsubstanz) in leukocytaire Rundzellen. Zwischen einem „Hornhautkörper“ und einer „Rundzelle“ ist ein großer morphologischer Unterschied. Die mannigfachen Zwischenstufen, die bei der Umwandlung gesetzmäßig auftreten, habe ich in vier Stadien schematisch zu bringen versucht^{3, 11}. Ein Nachuntersucher muß also zunächst von normalen und geschädigten Hornhäuten Implantationen kleiner Stücke ausführen, die $\frac{1}{2}$, 1, $1\frac{1}{2}$, 2 und 3 Stunden im Wirtstier verweilen. An histologischen Schnitten dieses Materials muß er studieren — denn das steht noch in keinem Lehrbuch —, wie diese Zwischenformen (der Umwandlung der Hornhautkörper zu Rundzellen), die sich schwer beschreiben lassen, aussehen, sonst hält er diese gesetzmäßigen Stadien für Kunstprodukte. Dann erst sollte er Kulturen in Citratplasma ausführen, um sich davon zu überzeugen, daß alle diese Zwischenstufen und meistens auch die Rundzellen, genau so, aber viel spärlicher, auch *in vitro* zu finden sind. Dasselbe gilt von Mumien Geweben. Wir befinden uns auf Neuland, und die Prozesse müssen, wie ich selbst das gemacht habe, in ihrem gesetzmäßigen Ablauf mit der Methode kurzer progressiver Implantationen verfolgt werden. Erst dann, wenn man diese Bilder gesehen hat, kann man die Stücke beurteilen, die *in vitro* bebrütet wurden.

Der Abbau des Gewebes erfolgt — aus vorläufig ungeklärten Gründen — in vitro nur unvollkommen, er muß experimentell in erster Linie mit der Methode der Implantation beobachtet werden, wie ich das stets betonte, auch wenn ich kontrollehalber die Citratplasmakultur verwandte. Meine Methode von Implantationen in Kollodiumhüllen gestattet außerdem, solche Vorgänge unter sicherem Abschluß von Wanderzellen zu beobachten, so daß es nicht zugänglich ist, bei Nachuntersuchungen diese wesentlichen Methoden unberücksichtigt zu lassen.

Besser als lange geschichtliche oder theoretische Entwicklungen mögen einige einfache Experimente dazu dienen, um uns mitten in das von mir behandelte Problem hineinzuführen.

Neue Versuche mit der Implantationsmethode.

1. Ein $5 \times 5 \times 10$ mm großes Stück quergestreiften Kaninchenmuskels (Abb. 1) wird 48 Stunden subcutan in ein gesundes Kaninchen verpflanzt. Es findet sich bei der mikroskopischen Untersuchung vor allem: a) eine starke Infiltration der Interstitien mit Rundzellen vom Typ der polynukleären Leukocyten; b) im Sarkoplasma treten Veränderungen (Abbau) auf: es erscheinen kokkengroße basophile Figuren in hellen Bezirken, die, wo sie (in Randpartien) größer geworden sind, Leukocyten so ähnlich sehen, daß andere Forscher sie dafür gehalten haben (Abb. 2).

2. Ein ebenso großes Stück quergestreiften Kaninchenmuskels wird 10 Min. gekocht und 48 Stunden subcutan in ein gesundes Kaninchen verpflanzt. Es finden sich a) im Interstitium keine typischen Rundzellen mehr, sondern eine gemeinsame Protoplasamasse, in der zahllose kleine und kleinste Kernfiguren oft in Rundzellenanordnung liegen. Ein Blick auf das nicht implantierte Kontrollstück zeigt uns, daß hier nicht nur eine Umwandlung von Gewebesubstanz, sondern auch eine *Neubildung* von basophilen Elementen stattgefunden hat; b) im Sarkoplasma sind die beschriebenen Umwandlungsvorgänge nur noch äußerst spärlich aufgetreten (Abb. 3).

3. Wir besorgen uns einige gekochte Krabben (auch Büchsenkrabben) und implantieren ein etwa $5 \times 5 \times 10$ mm großes Stück der Schwanzmuskulatur: es finden sich weder leukocytäre Zellen noch eine Protoplasamasse mit Kernen in den Interstitien. Auch im Sarkoplasma findet man keine „Abbauvorgänge“ (Abb. 4).

Erklärung. Der erste Versuch zeigt den Abbau des Muskelgewebes, eine Zellproduktion und -proliferation im Interstitium und eine Umwandlung des Sarkoplasmas. Im gekochten Muskelgewebe verläuft dieser gleiche Vorgang atypisch; die auftretenden neuen Gebilde werden aber von den meisten a priori noch als lebende Zellen, nämlich eingewanderte Leukocyten, gedeutet. Es sind aber keine eingewanderten Leukocyten, denn im Krabbenmuskel fehlen sie: die Krabben gehören zu den Avertebraten, und das Gewebe der Wirbellosen zeigt keinen Abbau in

Wirbeltieren, wie ja auch Vertebratengewebe, in Avertebraten implantiert keinen normalen Abbau zeigt³. Dieser Umstand läßt die Gewebe der

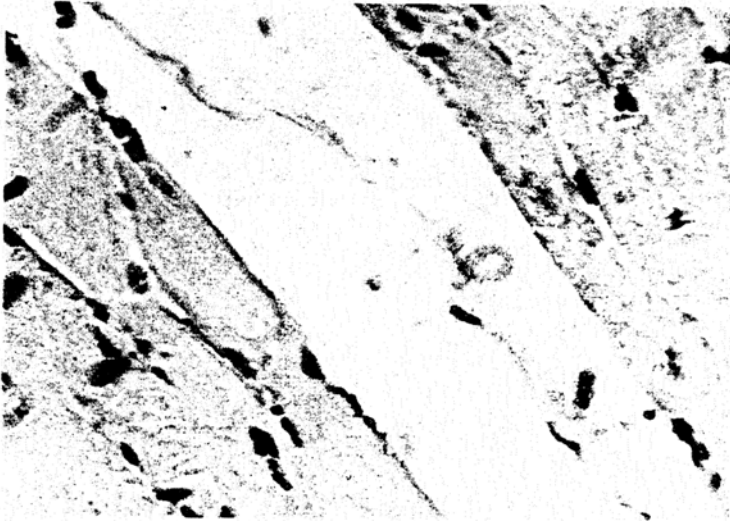


Abb. 1. Normaler Kaninchenn Muskel vor der Implantation.

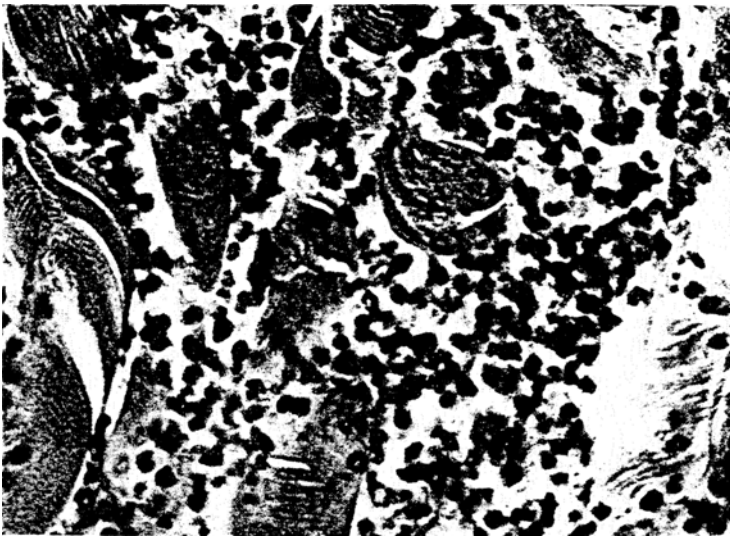


Abb. 2. Normaler Kaninchenn Muskel, 48 Stunden subcutan implantiert: Reichliche Zellen im Gewebe.

Wirbellosen — ich wählte das überall erhältliche Krabbengewebe — als Testobjekte für die vorliegende Frage besonders wertvoll erscheinen. Er bestätigt meine zahlreichen Beweise für die Nichteinwanderung von Leukocyten in implantierte Gewebe³.

Da man aber im normalen interstitiellen Muskelgewebe (auch im Gewebe der Lungensepten) außer dem Abbau auch eine *Proliferation*

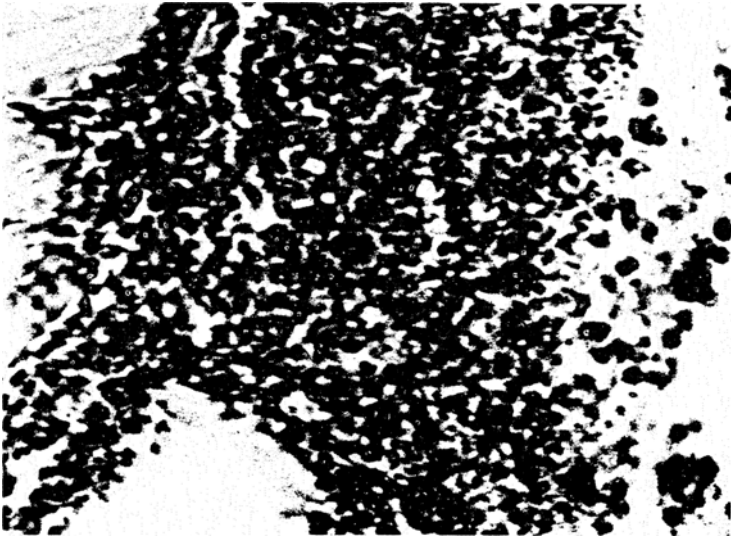


Abb. 3. Gekochter Kaninchenmuskel, 48 Stunden subcutan implantiert: Das interstitielle Gewebe ist mit einer Protoplasmanasse mit unzähligen Kernen erfüllt.

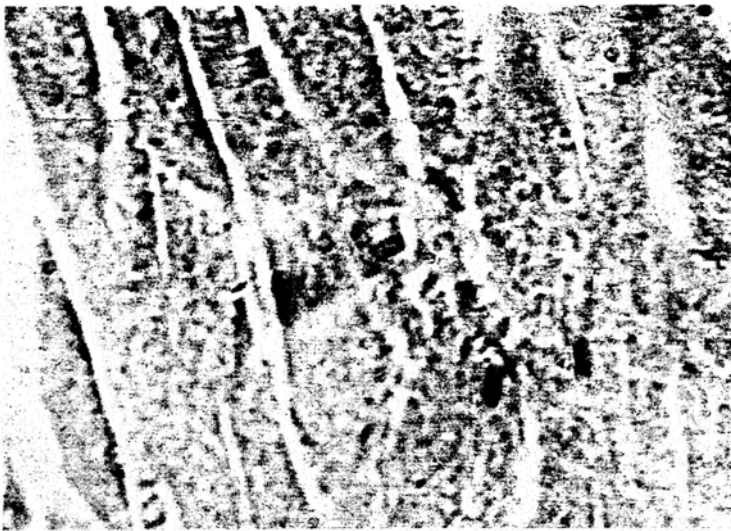


Abb. 4. Gekochter Krabbenmuskel, 48 Stunden implantiert: Das Gewebe zeigt weder Protoplasma noch Kerne in den Interstitien.

beobachten kann, so ist die Frage nach den Lebensfunktionen des geschädigten Gewebes noch eindeutiger zu beantworten als z. B. beim Hornhaut- und Linsengewebe, wo nur Abbau beobachtet wird.

4. Mumiengewebe (Sehne einer ägyptischen Mumie). a) *1 Stunde Implantation*: Wenn man den Rand des Gewebestückes mit der Ölimmersion absucht, findet man einzelne acidophile Bezirke, in denen basophile Substanz sich in Form feinsten Körnchen niedergeschlagen hat, die gelegentlich bis an die Größe eines Kernes heranreichen.

b) *2 Stunden implantiert*: An einer Stelle des Randes treffen wir auf Gebilde von etwa Zellengröße, die entweder aus acidophiler Substanz bestehen, in welcher die basophile in Form kleiner Körnchen diffus sichtbar ist oder aber schon neben dieser Körnelung eine Konzentration zu blasenförmigen Kernen aufweist, während 2 Gebilde bereits leuchtendes gelblichrotes Protoplasma und 3 blasenförmige Kerne aufweisen (Abb. 5).

c) *3 Stunden implantiert*: An vielen Stellen des Gewebsrandes sind, und zwar innerhalb des Gewebes, unfertige Formen wie die eben beschriebenen zu sehen, weiter nach außen hin dagegen ebensolche Figuren und verhältnismäßig viele Rundzellen, deren blasige Kernform und deren gelbliches Protoplasma überhaupt keine Verwechslung mit Wanderzellen zuläßt (Abb. 6).

Erklärung. Das schrittweise Entstehen von Zellen aus differenziertem Mumiengewebe erfolgte, wie schon bei früheren Versuchen beschrieben, aus Gebilden, die keine Kunstprodukte sind, sondern Vorstufen besagter Zellen. Die Bildung der ersten dieser Zellen erfordert 2—3 Stunden.



Abb. 5. Mumiensehne, 2 Stunden implantiert: Vorwiegend unfertige Zellen.



Abb. 6. Mumiensehne, 3 Stunden implantiert: Unfertige und fertige (krankhafte) Rundzellen im Gewebe.

Neue Implantationsversuche in Kollodiumhüllen¹.

1. Halbierte Bandwurmglieder werden an einem Faden angeknötet, in flüssiges Kollodium 5—10 Sek. untergetaucht und nach Erstarren des Kollodiums 8 Tage subcutan implantiert. Es finden sich keine leukocytären Elemente im Innern der Bandwurmstücke. (Bei der freien Implantation dringen natürlich Wanderzellen in die eröffnete Leibeshöhle des Bandwurmgliedes ein.)

2. Halbierte gekochte Bandwurmglieder werden ebenso behandelt: es finden sich keine leukocytären Elemente in ihrem Innern.

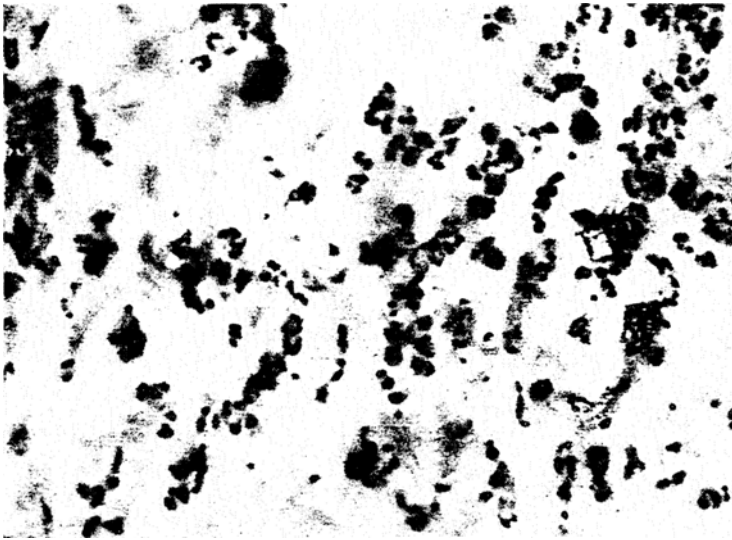


Abb. 7. Gekochte Kaninchenhornhaut, in Kollodiumhülle 8 Tage implantiert: Es existieren viele neue Zellen im Gewebe.

3. Hornhautstreifen werden wie beschrieben in Kollodiumhüllen implantiert: es finden sich Stellen, wo Degeneration (Schwund der färbbaren Elemente) eingetreten ist, andere, wo ganze Faserbündel protoplasmatisch wurden und Kerne, Rundzellen, Entzündungsspieße usw. zeigen. Die Rundzellen geben positive Oxydasreaktion.

4. Gekochte Hornhautstreifen, ebenso behandelt, zeigen völlig analoge Verhältnisse, auch geben ihre Zellen positive Oxydasreaktion (Abb. 7).

5. Streifen formolfixierten Linsengewebes zeigen bei gleichem Vorgehen nur violette Verfärbung einzelner Fasern. Ich habe nachgewiesen, daß das Linsengewebe außerordentlich träge reagiert, der Abbau setzt bei der freien Implantation erst nach 24 Stunden ein; hier, wo der Zutritt der wirksamen Säfte gedrosselt ist, fehlt er daher ganz.

6. Streifen formolfixierter Hornhäute, wie beschrieben in Kollodiumhüllen implantiert, zeigen teils degenerative Veränderungen an den

Hornhautkörpern, teils aber am Rande Fasern, die protoplasmatisch geworden sind. In diesen Fasern liegen Kerne hintereinander, blasig, manchmal in Abschnürung, manchmal in Rundzellenanordnung. Die Formolfixierung bedeutet eine schwerere Gewebeschädigung als das Kochen; in formolfixierten Hornhäuten dauert daher die Bildung von Rundzellen bei der Implantation länger als in normalen oder gekochten. Die hier vorliegenden geringeren Abbauvorgänge decken sich also mit den genannten Befunden.

7. Streifen von Mumiengewebe (Alter 5000 Jahre) in Kollodinhülle implantiert: Weite Gebiete, ganze Blickfelder, sind substituiert durch

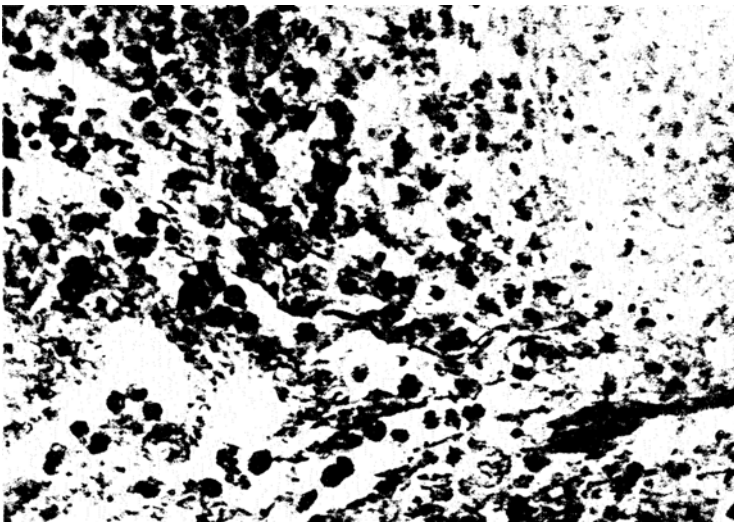


Abb. 8. Mumiensehne, 8 Tage in Kollodium implantiert: Es existieren viele (krankhafte) Zellen im Gewebe.

eine Fülle von Zellen von einem außerordentlichen Formenreichtum. Vielfach überwiegt die Anordnung der Kerne zu Rundzellenform. Die Kerne sind häufig matt gefärbt und blasenförmig, das Protoplasma hebt sich an vielen Stellen nicht ab, an andern sind sehr schön begrenzte Rundzellen zu erkennen (Abb. 8).

Erklärung. Daß bei der angewandten Methode Leukocyteneinwanderung nicht in Frage kommt, lehren die Versuche 1, 2 und 5. Das Ausbleiben von Abbau im Bandwurmgewebe erklärt sich, wie schon gesagt, daraus, daß es ein Avertebratengewebe ist. Bezüglich der Vorgänge an gekochten, formolfixierten und mumifizierten Geweben sind aber nur zwei Deutungen möglich:

Entweder man sagt: Trotz der erlittenen Schädigung ist die vitale Funktion des Gewebes, sich unter dem Einfluß spezifischer Ernährungs-

säfte in Rundzellen umzuwandeln, noch nicht erloschen; *oder man sagt*: Das gekochte, fixierte oder mumifizierte Gewebe ist tot, aber auch totes Gewebe kann oxydasepositive Rundzellen und Entzündungsbilder hervorbringen*. Das würde aber eine „Urzeugung“ bedeuten, denn gekochtes Muskelgewebe zeigt, wie wir gesehen haben, im interstitiellen Bindegewebe deutliche und starke Proliferation; außerdem sind ja im Mumiengewebe nicht etwa die alten Zellen, das kernarme Sehnengewebe wieder zum Vorschein gekommen, sondern das Gewebe wurde direkt abgebaut und hat Zellen geliefert.

Neue Versuche von Implantationen in Filtrierpapier.

1. In ein steriles Kuvert aus Filtrierpapier (15×25 mm) kommt ein 2×3 mm großes, normales Hornhautstück. Das Kuvert wird nicht verschlossen, sondern mit nur umgefalteten Rändern 4 Tage subcutan implantiert. Im Innern des Kuverts findet sich nach diesem Zeitraum seröse, nicht gerinnbare Flüssigkeit, die von Rundzellen wimmelt. Im Hornhautgewebe dagegen fehlen Rundzellen, das Chromatin der Hornhautkörper ist verschwunden oder nur andeutungsweise als feinste Granulationen zu erkennen.

2. In einem ebensolchen Kuvert wird ein Stück gekochten Hornhautgewebes implantiert: im Gewebe finden sich keine Rundzellen, das Chromatin erscheint im Vergleich zu nicht implantierten Stücken etwas vermindert.

3. Der Versuch wird mit formolfixiertem Gewebe wiederholt: Ergebnis wie beim obengenannten Experiment.

4. Mumiengewebe wird wie beschrieben in Filtrierpapier implantiert. Es zeigt keine Zellen oder Kerne, trotzdem auch in diesem Falle die umgebende Flüssigkeit von Rundzellen wimmelt.

Erklärung. Das Filtrierpapier hat den Ausfall des Fibrins aus den subcutanen Säften bewirkt; dadurch haben diese Säfte die Fähigkeit, Abbau hervorzurufen, verloren, genau so wie das in vitro der Fall ist, wo man bescheidenen Abbau nur im Plasma, nicht aber in Serum und defibriniertem Blut erhält. Die Anwesenheit zahlloser Rundzellen kann (ebenso wie in vitro bei defibriniertem Blut) an dem negativen Ausfall dieses Experimentes nicht das geringste ändern.

Versuche mit Citratplasma.

Von meinen ersten Arbeiten an^{5, 6} habe ich darauf hingewiesen, daß der Abbau an *implantierten* Geweben studiert werden muß, und die Kollodiummethode erwähnt, die solche Beobachtungen unter Abschluß

* Die Frage, ob diese Gebilde als Kunstprodukte aufzufassen sind, habe ich auf Grund eigener und fremder Experimente in einer speziellen Abhandlung verneint. Für das „Leben“ gekochter und formolfixierter Gewebe spricht unter anderem der Umstand, daß man solche Hornhautgewebe erfolgreich zu Corneatransplantationen verwenden konnte, was bekanntlich mit totem Material niemals gelingt⁸.

von Wanderzellen gestattet. Die Citratplasmamethode habe ich später als Ergänzung gefunden und, indem ich sie „Krücke und Leitseil“ für die vollkommene Implantationsmethode nannte⁷, gleichzeitig auf ihren relativen Wert hingewiesen. Wer meine Befunde allein mit dieser Methode prüfen will, sollte untersuchen: a) welche Veränderungen treten in dem normalen Gewebe nach *Carrel*-Kultur bzw. nach Citratplasmakultur auf; b) welche Veränderungen sind in dem Gewebe zu konstatieren, wenn man es vor der Kultur geschädigt hat. Diese Methode habe ich — wohlgemerkt neben der kurzen progressiven freien Implantation und Implantation in Kollodium — in meiner letzten Arbeit⁸ angewandt, indem ich Hornhautstücke kultivierte, die auf 35, 40, 45, 50—95 und 100° erhitzt waren. Es ergab sich, daß in Citratplasma *alle* diese Gewebe eine *gleichartige* Umwandlung ihrer Hornhautkörper in Richtung auf die leukocytaire Rundzelle zeigten, und daß diese Veränderungen in allen anderen Kulturmedien fehlten. Ich verzichte deshalb aus Gründen der Raumersparnis darauf, weiter derartige parallele Befunde hier noch einmal zu wiederholen* und werde mich auf eine 24stündige Kultur von Mumiengewebe in Citratplasma beschränken (Abb. 9).



Abb. 9. Mumienschne, 24 Stunden in Citratplasma kultiviert: Bei systematischem Suchen finden sich Gruppen unfertiger und fertiger Rundzellen mit sehr mangelhaft kondensierten Kernen (Zeichnung bei Ölimmersion).

Vollmar hat weder meine genauen Befunde noch meine Arbeitsmethode gekannt und auf Grund meiner vorläufigen Mitteilungen Versuche angestellt, bei denen Pilzinfektionen auftraten. In einer demnächst erscheinenden Arbeit⁹ habe ich genau beschrieben, wie man eine relative Asepsis durch vorhergehendes Ausspülen der teilweise zerpupften Gewebestückchen in fließendem sterilem Wasser und durch häufiges Wechseln des (warmen) Citratplasmas während der Kultur erreichen kann. Das Gewebe wird nach 12—72 Stunden Kultur fixiert und in Paraffin eingebettet, ein Deckglas mit Schnitten beladen und gefärbt und das Präparat dann mit der Ölimmersion wie ein Blutaussstrich sehr genau durchmustert. Man sieht dann stellenweise den Gewebsrand in schmaler Zone intensiver gefärbt, eine Erscheinung, die man zunächst übersieht oder ihr doch keine Bedeutung beimißt. Wenn man jetzt diese Ränder mit der

* Die Ergebnisse der Plasmakulturen *Vollmars* widersprechen den Arbeiten von *Filatoff* und *Bajenowa*, welche Auswachsen von Spießen aus völlig getrockneten Hornhäuten erzielen¹⁰; ich selbst habe derartige Versuche nicht ausgeführt, dagegen die Entstehung leukocytaerer Rundzellen in formalingeschädigten Geweben beschrieben und mikrophotographiert¹¹.

Ölimmersion geduldig und systematisch absucht, findet man eigentlich in jeder Kultur aufgefaserte Stellen, wo entweder nur Chromatinbröckel oder Chromatinbröckel und unfertige Leukocyten auftauchen, oder wo (und das allein ist natürlich entscheidend) Chromatinbröckel + unfertige Leukocyten + fertige Leukocyten zu sehen sind. Das Suchen nach Zellen in diesen Kulturen ist etwa so mühsam wie das nach Tuberkelbacillen im Urinsediment bei beginnender Nierentuberkulose. Ich habe in einem Präparat, an dem ich bereits einmal Zellen photographiert hatte, 30 Min. suchen müssen, ehe ich wieder (diese und andere) Zellen fand. Aber im Prinzip genügt ja der Nachweis der Bildung einer einzigen Zelle, um die Brücke zu schlagen zu den reichlichen Befunden in jenen Gewebestücken, die frei oder in Kollodiumhüllen implantiert waren.

Zusammenfassung.

Der Abbau, das Zu-Rundzellen-Werden des Gewebes erfolgt in idealem Ausmaß bei der freien Implantation. Er ist nicht die Folge einer Leukocytenwanderung, denn er fehlt in den implantierten Geweben wirbelloser Tiere, er fehlt ebenfalls, wenn das Fibrin der subcutanen Lymphe ausgefallen ist, er findet dagegen statt auch in Kollodiumhüllen.

Der Abbau ist wahrscheinlich eine Wirkung gewisser Fermente, die im defibrinierten Blut, im Serum und in der des Fibrins beraubten subcutanen Lymphe fehlen; welche im Plasma nur in Spuren, in der normalen Gewebelymphe aller Wirbeltiere dagegen reichlich vorhanden sind und durch semipermeable Hüllen diffundieren.

Der Abbau ist die primitivste Gewebefunktion, welcher aus verschiedenen Gründen ein vitaler, kein bloß kolloidchemischer Charakter zukommt. Er tritt auch an gekochten, fixierten und mumifizierten Geweben auf, wozu neue experimentelle Belege geliefert wurden. Auch Proliferation konnte in gekochten Geweben nachgewiesen werden. Alle diese Erscheinungen fehlen aber an (frei oder in Kollodiumhüllen) implantierten Avertebratengeweben.

Schrifttum.

- ¹ *Vollmar, H.*: Virchows Arch. 1941. — ² *Grawitz, P.*: Atlas der pathologischen Gewebelehre. Berlin: Richard Schötz 1893. — ³ *Busse-Grawitz, P.*: Z. exper. Med. 108, H. 2 (1940). — ⁴ *Busse-Grawitz, P.*: Beitr. path. Anat. 105, H. 1 (1940). — ⁵ *Busse-Grawitz, P.*: Dtsch. med. Wschr. 1939 II. — ⁶ *Busse-Grawitz, P.*: Graefes Arch. 141, H. 1 (1939). — ⁷ *Busse-Grawitz, P.*: Arch. exper. Zellforsch. 24, H. 2 (1940). — ⁸ *Busse-Grawitz, P.*: Graefes Arch. 1941. — ⁹ *Busse-Grawitz, P.*: Arch. exper. Zellforsch. 1941. — ¹⁰ *Filatoff et Bajenowa*: Arch. d'Ophthalm. 1, 385—390 (1937). — ¹¹ *Busse-Grawitz, P.*: Graefes Arch. 142, H. 3 (1940).